

## Produksi Enzim Selulase dari *aspergillus niger* Menggunakan Sekam Padi dan Ampas Tebu sebagai Induser.

### *Production of Cellulase Enzyme from aspergilus niger using Rice Husk and Bagasse as Inducer*

Purkan\*, Purnama HD, dan Sumarsih S  
Departemen Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga  
Kampus C, Jl. Mulyorejo, Surabaya  
\*)Email : [purkan@fst.unair.ac.id](mailto:purkan@fst.unair.ac.id)

#### ABSTRACT

*Aspergillus niger* is fungi can produce cellulase enzyme with agriculture waste as natural inducers. The purpose of this study was to compare the natural inducers potential between rice husk and bagasse to produce cellulase enzyme from *Aspergillus niger*. Production of cellulase enzyme was done with variety of inducers such as CMC, rice husk, and bagasse. The optimization of enzyme production includes optimum production time, inducer type, and optimum concentration of inducer. Furthermore, the enzyme also was characterized in pH and temperature. Enzyme activity test using the DNS method with CMC as substrate. According of this test result show that highest cellulase enzyme activity has production time for 108 hours with rice husk as inducer. The optimum rice husk concentration was needed of 2.5%. The cellulase enzyme was induced by rice husk has optimum activity at pH 4 and 50°C of 0.709 IU/mL.

**Keywords** : cellulase enzymes, *aspergillus niger*, inducers, rice husk, bagasse.

#### PENDAHULUAN

Enzim selulase adalah enzim yang mampu mendegradasi selulosa dengan produk utamanya yakni glukosa, selobiosa dan selooligosakarida. Selulase memiliki sistem enzim yang terdiri dari endo-1,4- $\beta$ -glukanase, ekso-1,4- $\beta$ -glukanase dan  $\beta$ -D-glukosidase. Ketiga enzim ini bekerja secara sinergis mendegradasi selulosa dan melepaskan gula pereduksi sebagai produk akhirnya. Endo-1,4- $\beta$ -glukanase memotong ikatan rantai dalam selulosa menghasilkan molekul selulosa yang lebih pendek, ekso-1,4- $\beta$ -glukanase memotong ujung rantai selulosa menghasilkan molekul selobiosa, sedangkan  $\beta$ -D-glukosidase memotong molekul selobiosa menjadi dua molekul glukosa (Kim, 2001).

Selama ini telah banyak penelitian yang dilakukan tentang produksi enzim selulase dari berbagai jenis mikroba baik bakteri maupun kapang. Menurut Astutik *et al.* (2010), beberapa jenis kapang yang mampu menghasilkan enzim selulase cukup tinggi adalah *Penicillium sp.1*, *Penicillium sp.2*, *Penicillium sp.3*, *Aspergillus niger*, dan *Paecylomyces sp.1*. Kemampuan *Aspergillus*

*niger* menghasilkan enzim selulase yang cukup tinggi juga dilaporkan oleh Adri *et al.* (2013) dengan memanfaatkan jerami padi dan CMC (*Carboxyl Methyl Cellulose*) sebagai induser.

Enzim selulase merupakan enzim yang bersifat induktif. Produksi enzim selulase oleh mikroba membutuhkan adanya induser dalam medium fermentasinya. Induser tersebut yang akan menginduksi pembentukan enzim selulase pada sel mikroba. Jumlah enzim yang ada di dalam sel tidak tetap, bergantung indusernya. Jumlahnya akan bertambah beberapa kali lipat apabila dalam medium mengandung substrat yang menginduksi. Senyawa induser yang diperlukan umumnya berupa substrat enzim tersebut (Adri *et al.*, 2013).

Induser yang sering digunakan untuk memproduksi enzim selulase dari *Aspergillus niger* adalah CMC (*Carboxyl Methyl Cellulose*) yang merupakan senyawa turunan dari selulosa. Namun penggunaan induser tersebut dirasakan kurang efektif karena hanganya cukup mahal, sehingga banyak penelitian yang dilakukan untuk menggantikan peran CMC tersebut.

Pada saat ini, penelitian tentang penggunaan induser alami terus berkembang.

Beragam induser yang telah diteliti kebanyakan berasal dari limbah pertanian. Penggunaan induser alami ini merupakan alternatif penggunaan induser yang lebih ramah lingkungan dengan nilai ekonomis yang rendah. Berdasarkan penelitian yang dilaporkan Maranatha (2008), ada beberapa jenis limbah pertanian yang dapat dijadikan induser alami yakni jerami padi, tongkol jagung. Sedangkan pada penelitian ini dikembangkan lagi penggunaan induser alami dari limbah pertanian berupa sekam padi dan ampas tebu.

Sekam padi dan ampas tebu merupakan limbah pertanian yang ketersediaannya sangat melimpah di Indonesia. Jika dilihat dari sisi ekonomisnya tentu lebih murah dan ramah lingkungan. Pemilihan kedua limbah tersebut didasari oleh banyaknya jumlah selulosa yang terkandung di dalamnya. Kandungan sekam padi terdiri dari beberapa komponen utama yakni 50% selulosa, 25-30% lignin, 15-20% silika, dan kadar air 9,02% (Irvan *et al.*, 2013) sedangkan komponen utama yang terdapat pada ampas tebu adalah hemiselulosa 20-32,2%, selulosa 40,3-55,35%, dan lignin 11,2-15,27% (Enny *et al.*, 2010). Tingginya kandungan selulosa pada sekam padi dan ampas tebu ini diharapkan mampu menginduksi produksi enzim selulase yang tinggi.

## METODE

### Pembuatan Media Padat

Media padat ini terdiri dari beberapa komponen nutrisi (g/L air) : 1,0  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 1,5  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ;  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0,2; *yeast extract* 2,0 dan glukosa 3,0 serta 18,0 agarosa. Selanjutnya media disterilisasi menggunakan *autoclave* selama 45 menit pada suhu 121°C. Media yang telah steril kemudian dituang dalam cawan petri steril, diamkan hingga media tersebut memadat. Media caie memiliki komposisi yang sama dengan media padat, tetapi tidak ada penambahan agar.

### Pembuatan Media Produksi

Media produksi dibuat sebanyak 20 mL yang terdiri dari komposisi (g/L air) berikut : 1,0  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 1,5  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ;  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0,2; *yeast extract* 2,0 dan glukosa 3,0. Selanjutnya ditambahkan 10,0 induser CMC, sekam padi, dan ampas tebu pada masing-masing media yang berbeda. Semua bahan dilarutkan dalam labu Erlenmeyer 100 mL yang kemudian ditutup dengan kapas dan *aluminium foil*. Media ini kemudian disterilisasi dengan *autoclave* selama 45 menit (Astutik *et al.*, 2010).

### Persiapan Induser

Sampel sekam padi dan ampas tebu dikeringkan terlebih dahulu di bawah sinar matahari kemudian dihaluskan dan diayak, lalu dilakukan *pre-treatment* dengan cara 10 gram sampel ditambah dengan NaOH 5% (1:10). Kemudian disaring dengan corong Buchner dan dicuci menggunakan akuades sampai pH netral. Langkah terakhir dikeringkan dengan oven pada suhu 105°C selama 10 jam.

### Kultivasi Isolat Penghasil Enzim Selulase

#### Peremajaan Isolat *Aspergillus Niger*

Sebanyak satu ose koloni dipindahkan dari stok biakan ke dalam media padat yang telah disiapkan kemudian diinkubasi selama 3 hari pada suhu 37°C. Koloni tunggal yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk pembuatan inokulum.

### Kurva Pertumbuhan

Kurva pertumbuhan *Aspergillus niger* menggunakan metode berat kering. Sebanyak 200  $\mu\text{L}$  inokulum dipindahkan ke dalam media pertumbuhan 20 mL dalam labu Erlenmeyer 100 mL. Suspensi biakan diinkubasi pada suhu ruang dengan pengocokan (*shaker*) 150 rpm. Selanjutnya dilakukan pengambilan inokulum setiap 4 jam selama 3 hari untuk mengukur berat keringnya. Inokulum tersebut kemudian disaring menggunakan kertas saring dan dicuci dengan akuades. Sebelum diukur beratnya, sampel dimasukkan ke dalam oven dan desikator untuk menghilangkan kadar airnya hingga didapatkan berat yang konstan.

### Pembuatan Inokulum

Isolat yang telah diremajakan dipindahkan sebanyak 1 ose ke dalam media pertumbuhan 50 mL dalam Erlenmeyer 250 mL, kemudian diinkubasi pada suhu ruang dengan pengocokan 150 rpm selama waktu kultivasi optimum yang diperoleh dari kurva pertumbuhan. Hasil tersebut akan digunakan sebagai starter.

### Produksi Enzim Selulase dari *Aspergillus Niger*

#### Kurva Produksi Enzim Selulase

Sebanyak 200  $\mu\text{L}$  inokulum ditambahkan ke dalam 20 mL media produksi kemudian diinkubasi pada suhu ruang dengan pengocokan 150 rpm menggunakan *shaker* selama 6 hari. Selanjutnya dilakukan pengambilan sampel dengan variasi waktu setiap 12 jam. Sampel tersebut disentrifugasi menggunakan *sentrifuge* dingin dengan suhu 4°C dengan kecepatan 3500 rpm untuk diambil supernatannya. Supernatan ini merupakan enzim ekstrak kasar selulase yang selanjutnya diuji aktivitasnya.

### Optimasi Induser Terbaik untuk Produksi Enzim Selulase

Sebanyak 200  $\mu\text{L}$  inokulum ditambahkan ke dalam 20 mL media produksi dengan penambahan induser terbaik yang diketahui dari kurva produksi (hasil percobaan prosedur 3.4.4.1). Penambahan induser

ini dilakukan dengan variasi kadar induser sebesar 0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 dan 3,0% (b/v). Media produksi ini kemudian diinkubasi pada suhu ruang dengan pengocokan 150 rpm menggunakan *shaker* selama waktu produksi optimal yang diperoleh dari kurva produksi. Setiap media diambil sampelnya untuk diuji aktivitas.

#### Penentuan Kurva Progres Enzim Selulase

Kurva progres diperlukan untuk mengetahui waktu inkubasi yang tepat ketika uji aktivitas enzim dilakukan. Ekstrak kasar enzim sebanyak 80  $\mu$ L ditambah dengan 720  $\mu$ L CMC 1% dalam buffer sitrat fosfat pH 7 kemudian diinkubasi dengan selang waktu 10 menit dimulai dari 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, dan 90 menit. Setelah itu ditambahkan 1200  $\mu$ L pereaksi DNS kemudian diuji aktivitasnya menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 540 nm.

#### Uji Aktivitas Enzim Selulase

Aktivitas enzim selulase ditentukan dengan menggunakan metode DNS (asam-3,5-dinitrosalisilat). Sebanyak 80  $\mu$ L ekstrak kasar enzim ditambah dengan 720  $\mu$ L substrat larutan CMC 1% (dalam buffer sitrat fosfat pH 7) dimasukkan ke dalam tabung *Eppendorf* kemudian diinkubasi dalam *water bath* dengan suhu 37°C selama 60 menit. Hasil inkubasi ditambah 1200  $\mu$ L pereaksi DNS lalu dimasukkan ke dalam penangas air mendidih selama 15 menit. Setelah itu, dimasukkan ke dalam penangas es selama 20 menit.

Dalam uji ini digunakan kontrol berupa 80  $\mu$ L ekstrak kasar enzim yang telah dipanaskan selama 15 menit kemudian ditambahkan 720  $\mu$ L substrat dan 1200  $\mu$ L pereaksi DNS. Campuran larutan tersebut diperlakukan sama seperti kondisi sampel di atas. Setelah itu gula pereduksi yang terbentuk diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada  $\lambda=540$  nm (Miller, 1959; Puspainingsih, 2007).

#### Karakterisasi Enzim Selulase

##### Penentuan pH Optimum

pH optimum enzim selulase dapat ditentukan dengan cara berikut: menyediakan beberapa larutan CMC 1% dalam buffer pada variasi pH 3, 4, 5, 6, 7, dan 8. Untuk pH 3 sampai 7 menggunakan buffer sitrat fosfat sedangkan pH 8 menggunakan buffer fosfat. Selanjutnya, masing-masing larutan ditambah ekstrak kasar enzim dan diinkubasi selama 60 menit pada suhu 37°C. Kemudian diuji aktivitasnya.

##### Penentuan Suhu Optimum

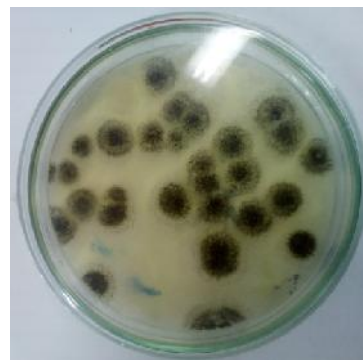
Penentuan suhu optimum dilakukan pada kisaran temperatur 30, 37, 40, 50, 60, dan 70°C dalam substrat CMC 1% pada pH optimum (hasil percobaan prosedur 3.4.7.1), selanjutnya menambahkan ekstrak kasar enzim kemudian diinkubasi selama 60 menit dan diuji aktivitasnya.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Profil Pertumbuhan *Aspergillus niger*

*Aspergillus niger* merupakan salah satu jenis kapang yang mampu menghasilkan enzim selulase dengan baik. Pemilihan kapang tersebut pada penelitian ini juga dikarenakan sifatnya yang relatif mudah tumbuh pada berbagai jenis media. Kinerja *Aspergillus niger* semakin maksimal apabila ditumbuhkan dalam waktu dan kondisi yang optimal pula. Karena semakin baik kualitas sel maka jumlah enzim yang akan dihasilkan dalam metabolisme sel semakin banyak.

Selama pertumbuhan, sel-sel *Aspergillus niger* yang digunakan harus dalam keadaan baru sehingga perlu dilakukan beberapa tahap untuk meremajakannya. Pertama dimulai dengan meremajakan isolat *Aspergillus niger* dalam media padat. Pertumbuhan *Aspergillus niger* ini diamati dengan munculnya spora berwarna hitam yang mulai terlihat pada hari ketiga.



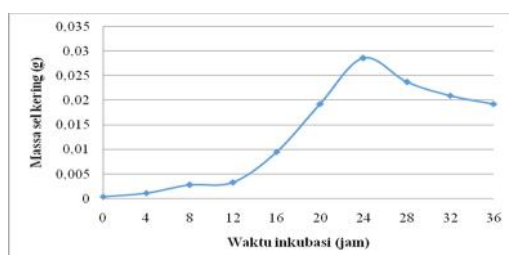
Gambar 1. Biakan *Aspergillus niger* pada media padat selama 3 hari

Kurva pertumbuhan *Aspergillus niger* diperoleh dengan menanamkan sel-selnya ke dalam media cair. Sel-sel *Aspergillus niger* dipindahkan dari media padat ke media cair dengan bertujuan untuk menghasilkan sel-sel yang lebih aktif yang biasa disebut dengan inokulum. Proses pengaktifan sel-sel tersebut dilakukan dengan cara aerasi melalui pengocokan. Hal ini bertujuan untuk menyuplai kadar oksigen secara terus menerus selama pertumbuhan sel berlangsung. Proses pertumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode berat kering.

Metode berat kering merupakan salah satu metode yang digunakan dalam kurva pertumbuhan mikroorganisme berdasarkan

bertambahnya jumlah dan berat sel tersebut (Murni et-al, 2011). Dalam penelitian ini, *Aspergillus niger* dalam media diukur berat keringnya setiap 4 jam. Berat kering yang konstan diperoleh dengan menghilangkan kadar airnya dengan cara memasukkan ke dalam oven dan desikator.

Menurut Maryanty et-al (2010), fase pertumbuhan diawali dengan fase lag (fase adaptasi) merupakan suatu fase dimana mikroorganisme menyesuaikan diri karena adanya perubahan media dan lingkungannya. Fase ini terjadi sesaat setelah inoculasi berlangsung dimana sel belum mengalami pertumbuhan dan jumlah sel masih relatif tetap. Selanjutnya adalah fase log (fase pertumbuhan). Sesuai dengan namanya fase ini merupakan fase pertumbuhan sel yang ditandai dengan meningkatnya jumlah sel yang signifikan karena proses pembelahan sel terjadi secara maksimal. Pada fase ini merupakan fase terbaik dalam penentuan waktu optimal inoculasi suatu sel. Fase ketiga adalah fase stasioner, fase dimana sel tidak akan tumbuh lagi dan relatif tetap. Hal tersebut disebabkan berkurangnya nutrient dan meningkatnya limbah pada media pertumbuhan. Fase ini terus berlanjut hingga memasuki fase kematian yang berarti jumlah sel menurun secara drastis. Sel-sel mulai mati karena konsentrasi nutrisi yang sangat rendah dan limbah yang tinggi mengakibatkan pertumbuhan sel terhambat.



Gambar 2. Profil pertumbuhan *aspergillus niger* dengan metode berat kering

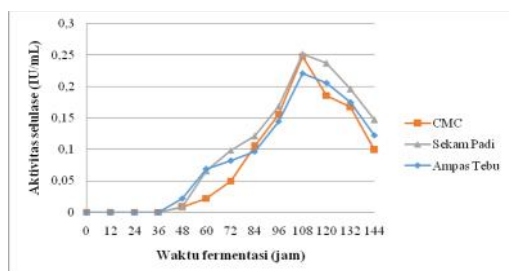
Berdasarkan kurva pertumbuhan *Aspergillus niger* di atas dapat terlihat pergerakan fase-fase pertumbuhan yang terjadi. Fase lag terjadi pada jam 0 hingga 4 jam. Setelah 4 jam, sel *Aspergillus niger* mulai mengalami pertumbuhan yang signifikan hingga 24 jam. Selanjutnya kurva mulai

mengalami penurunan secara bertahap hingga mencapai jam 36. Penurunan tersebut membuktikan bahwa sel mulai memasuki fase kematian sedangkan untuk fase stasioner memang tidak terlihat pada Gambar 2. tersebut. Hal ini bisa saja terjadi karena kemungkinan fase stasioner terjadi antara rentang jam 24 hingga sebelum mencapai jam 28. Menurut kurva pertumbuhan *Aspergillus niger*, waktu terbaik untuk pembuatan inokulum dilakukan selama 22 jam yang masuk dalam rentang fase pertumbuhan namun sebelum mencapai puncak pertumbuhan sel.

### Produktivitas Enzim Selulase oleh *Aspergillus niger* yang Diinduksi dengan Ampas Tebu dan Sekam Padi

Komponen yang terkandung dalam media fermentasi harus diperhatikan. Selain inducer diperlukan pula beberapa komponen yang harus terkandung dalam media guna menunjang berlangsungnya proses fermentasi. Adanya glukosa dan *extract yeast* berfungsi sebagai sumber karbon, kalsium dan kalium bertindak sebagai kofaktor enzim sedangkan magnesium untuk sintesis dinding sel, asam nukleat serta memelihara struktur membran (Wuru, 2003).

Produktivitas enzim selulase dari *Aspergillus niger* ditentukan dengan cara menguji aktivitas enzim tersebut menggunakan substrat CMC. Uji aktivitas enzim dilakukan dengan metode CMCase menggunakan reagen DNS (asam 3,5-dinitrosalisilat) yang akan diamati berdasarkan jumlah glukosa yang terbentuk. Karena seperti yang telah diketahui bahwa enzim selulase ini berfungsi untuk menghidrolisis substrat selulosa menjadi monomer gula pereduksinya berupa glukosa. Jumlah glukosa yang terbentuk akan dikonversi ke dalam bentuk IU (*International Unit*). Satu unit (IU) artinya sejumlah enzim selulase yang dapat membebaskan 1  $\mu\text{mol}$  gula pereduksi dalam kondisi percobaan per satuan waktu (Wahyuningtyas et al., 2013). Pengujian aktivitas enzim selulase ini menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 540nm. Berikut ini merupakan profil produktivitas enzim selulase yang diinduksi oleh CMC, ampas tebu, dan sekam padi yang dapat dilihat dari Gambar 3.



Gambar 3. Aktivitas enzim selulase dari *Aspergillus niger*. Produksi yang diinduksi dengan CMC, ampas tebu, dan sekam padi terhadap waktu fermentasi.

Produktivitas selulase dengan ketiga jenis induser mengalami peningkatan seiring bertambahnya waktu fermentasi hingga mencapai titik optimum yang sama pada 108 jam. Setelah mencapai titik optimum secara perlahan aktivitas enzim selulase mulai menurun. Hal tersebut mungkin disebabkan adanya kematian sel yang berdampak pada menurunnya aktivitas enzim yang terjadi sehingga glukosa yang dihasilkan semakin berkurang.

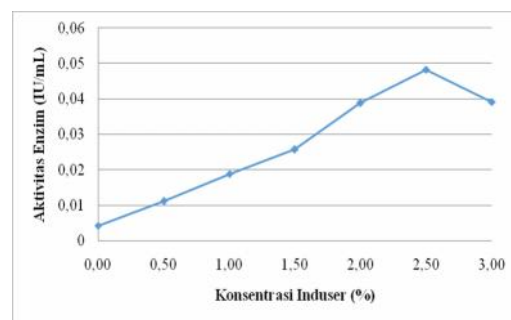
Gambar 3 menunjukkan bahwa induser dari limbah pertanian berupa ampas tebu dan sekam padi mampu menginduksi produksi enzim selulase dengan cukup baik. Diantara kedua induser alami tersebut memiliki kemampuan menginduksi enzim yang berbeda dimana sekam padi mampu menginduksi lebih baik dibandingkan dengan ampas tebu. Hal tersebut terlihat dari tingginya aktivitas selulase sebesar 0,251 IU/mL yang diinduksi dengan sekam padi daripada ampas tebu sebesar 0,221 IU/mL. Bahkan aktivitas selulase yang diinduksi oleh sekam padi sedikit lebih tinggi daripada yang diinduksi dengan CMC sebesar 0,248 IU/mL. Hal ini dapat dipengaruhi oleh proses *pre-treatment* yang dilakukan pada ampas tebu dan sekam padi yang mampu mengilangkan kandungan lignin yang biasanya melindungi selulosa. Hilangnya kandungan lignin ini menyebabkan sekam padi mampu menginduksi enzim selulase lebih maksimal (Adri *et al.*, 2013).

#### Produksi Enzim Selulase Optimum oleh *Aspergillus niger* dengan Variasi Konsentrasi Induser Terbaik

Pada percobaan sebelumnya telah ditentukan jenis induser terbaik diantara kedua induser alami yang diuji yakni sekam padi. Hasil tersebut akan dilanjutkan proses pengujiannya

hingga diperoleh produksi enzim selulase pada kondisi optimum.

Jenis induser dan kondisi yang optimum sangat berpengaruh terhadap produksi enzim sehingga aktivitas dari enzim tersebut juga optimal. Dalam upaya menghasilkan produktivitas enzim yang optimal maka perlu dilakukan optimasi konsentrasi induser. Pola produktivitas selulase menggunakan induser sekam padi dengan variasi konsentrasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Aktivitas enzim selulase dari *Aspergillus niger* dengan variasi konsentrasi induser sekam padi

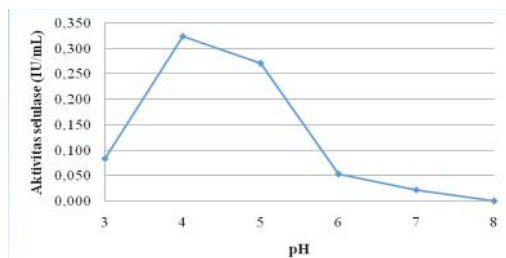
Berdasarkan Gambar 4 menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi induser berbanding lurus dengan tingginya produksi enzim selulase yang dihasilkan. Tahap ini hanya berlangsung hingga tercapainya konsentrasi optimal induser sebesar 2,5% yang terlihat dari aktivitas enzim selulase sebesar 0,0483 IU/mL, selebihnya produktivitas enzim mengalami penurunan. Konsentrasi induser yang kecil menyebabkan afinitas pengikat repressor oleh induser rendah. Begitu pula sebaliknya, konsentrasi induser yang terlalu besar menyebabkan kejenuhan pada produksi enzim selulase karena konsentrasi induser yang terlampaui besar dapat menghambat terbentuknya kompleks enzim substrat sehingga produksi enzim tidak berjalan maksimal.

#### Karakterisasi Aktivitas Enzim Selulase oleh *Aspergillus niger* Penentuan pH Optimum

Enzim merupakan suatu protein yang memiliki aktivitas biokimia sebagai katalis suatu reaksi. Aktivitas enzim dipengaruhi oleh pH karena sifat ionik pada gugus karboksil dan gugus aminonya. Perubahan pH yang tidak sesuai



akan menyebabkan daerah katalitik dan konformasi enzim berubah mengakibatkan denaturasi enzim sehingga aktivitas enzim menurun. Kinerja enzim dalam proses mengkatalisis suatu reaksi akan berjalan baik apabila berada pada kondisi pH yang optimum (Safaria *et al.*, 2013). Pada penelitian ini dilakukan karakterisasi pH dengan rentang pH 3, 4, 5, 6, dan 7 yang menggunakan buffer sitrat fosfat sedangkan untuk pH 8 menggunakan buffer fosfat.

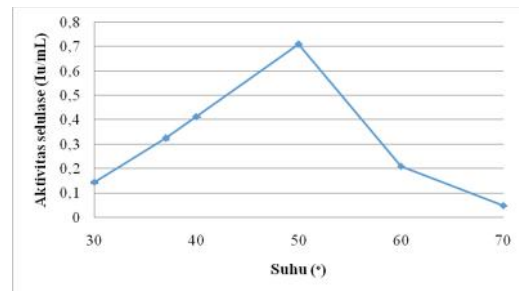


Gambar 5. Aktivitas enzim selulase oleh *Aspergillus niger* terhadap variasi pH

Berdasarkan Gambar 5 menunjukkan aktivitas enzim selulase optimum terjadi pada pH 4 (cenderung asam) dengan aktivitas enzim sebesar 0,324 IU/mL. Tingginya aktivitas enzim ditentukan oleh gugus aktif rantai samping enzim yang berfungsi sebagai sisi katalitik dalam mengikat substrat. Perubahan pH ini akan mempengaruhi ionisasi dari gugus-gugus samping pada asam amino. Hal ini juga berpengaruh pada ikatan hidrogen antar gugus fungsi sehingga mempengaruhi konformasi enzim dan substrat dalam mempertahankan struktur tersier dan kuaterner enzim aktif. Ketika aktivitas enzim mengalami penurunan menunjukkan bahwa terjadi perubahan konformasi enzim dengan substrat sehingga ikatan diantara keduanya semakin melemah (Lehninger, 2010).

#### Penentuan Suhu Optimum

Kemampuan enzim selulase dalam menghidrolisis substrat juga dipengaruhi oleh suhu. Pada penelitian ini dilakukan karakterisasi suhu dengan variasi suhu 30, 37, 40, 50, 60, dan 70°C pada pH 4 (pH optimum). Berikut merupakan profil produktivitas enzim selulase oleh *Aspergillus niger* yang diinduksi dengan sekam padi terhadap suhu.



Gambar 6. Aktivitas enzim selulase oleh *Aspergillus niger* terhadap variasi suhu

Gambar 6 menunjukkan adanya peningkatan aktivitas enzim diiringi dengan kenaikan suhu hingga mencapai titik optimal yakni pada suhu 50°C. Pada suhu optimal tersebut aktivitas enzim selulase mencapai 0,709 IU/mL. Bertambahnya suhu sampai dengan suhu optimum menyebabkan terjadinya kenaikan kecepatan reaksi enzim karena bertambahnya energi kinetik yang mempercepat gerak enzim dan substrat. Energi tersebut mampu menaikkan tabrakan antara molekul-molekul sehingga terbentuk kompleks enzim substrat yang lebih stabil yang mengakibatkan aktivitas enzim meningkat.

Suhu di bawah suhu optimum menghasilkan aktivitas spesifik selulase yang rendah karena kurangnya energi kinetik yang menyebabkan pembentukan kompleks enzim dan substrat menjadi kecil sehingga aktivitas enzim yang terjadi juga kecil. Apabila terjadi kenaikan suhu di atas suhu optimum menyebabkan aktivitas enzim menurun. Hal ini terjadi karena enzim termasuk jenis protein yang dapat mengalami denaturasi pada suhu tinggi. Denaturasi merupakan perubahan konformasi enzim akibat adanya perenggangan ikatan hidrogen yang bersifat reversibel sehingga dapat mempengaruhi sisi aktif enzim untuk berikatan dengan substrat (Mulyani *et al.*, 2009).

#### KESIMPULAN

Dari data penelitian maka dapat disimpulkan bahwa profil pertumbuhan *Aspergillus niger* mencapai fase log mulai pada 4 hingga 24 jam, aktivitas enzim selulase dari *Aspergillus niger* dengan penambahan induker sekam padi sebesar 0,251 IU/mL sedangkan dengan ampas

tebu sebesar 0,221 IU/mL, Karakteristik enzim selulase dari *Aspergillus niger* yang diinduksi oleh sekam padi berlangsung optimal pada pH 4 suhu 50°C dengan aktivitas enzim sebesar 0,709 IU/mL.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Abubakar, F.A. and Oloyede, O.B., 2013, Production and Activity of Cellulose from *Aspergillus niger* Using Rice Bran and Orange Peel as Substrates, *International Journal of Scientific Research and Management (IJSRM)*, 1(5), 285-291
- Adri, W., Mardiah, E., dan Afrizal, 2013, Produksi Enzim Selulase dari *Aspergillus niger* dan Kemampuannya Menghidrolisis Jerami Padi, *Jurnal Kimia Unand (ISSN No. 2303-3401)*, 2(2), 103-108
- Aryani, S.W., 2012, Isolasi dan Karakterisasi Ekstrak Kasar Enzim Selulase dari Kapang Selulolitik *Mucor* sp. B2, *Skripsi*, Program Studi S-1 Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga, Surabaya
- Astutik, R.P., Kuswyasari, N.D., dan Shovitri, M., 2010, Uji Aktivitas Enzim Selulase dan Xilanase Isolat Kapang Tanah Wonorejo Surabaya, *Laporan Penelitian*, Jurusan Biologi FMIPA ITS, Surabaya
- Enny, K.A., Margareta, N.E., dan Vissi, W.H., 2010, Konstanta Kecepatan Reaksi Sebagai Fungsi Suhu pada Hidrolisa Selulosa dari Ampas Tebu Dengan Katalisator Asam Sulfat, *Ekulilibrium*, 9(1), 1-4
- Irvan, Trisakti, B., Hasbi., C.N., dan Widiarti, E., 2013. Pengomposan Sekam Padi Menggunakan *Slurry* Dari Fermentasi Limbah Cair Pabrik Kelapa Sawit, *Jurnal Teknik Kimia USU*, 2(4), 6-7
- Kasmiran, A., dan Tarmizi, 2012. Aktivitas enzim Selulase dari Kapang Selulolitik pada Substrat Ampas Kelapa, *Lentera*, 12(1), 10-13
- Kim, K.H. and Hong, J., 2001, Supercritical CO<sub>2</sub> Pretreatment of Lignocellulose Enhances Enzymatic Cellulose Hydrolysis, *Bioresource Technol*, 77(2), 139-144
- Lehninger, A.L., 2010, *Dasar-Dasar Biokimia, jilid 1*, Penerjemah: Maggy Thenawidjaya, Penerbit Erlangga, Jakarta
- Maranatha, B., 2008, Aktivitas Enzim Selulase Isolat Asal Indonesia pada Berbagai Substrat Limbah Pertanian, *Skripsi*, Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor, Bogor
- Maryanty, Y., Pristiati, H., dan Ruliawati, P., 2010, Produksi Crude Lipase dari *Aspergillus niger* pada Substrat Ongok Menggunakan Metode Fermentasi Fasa Padat, *Prosiding Seminar Rekayasa Kimia dan Proses*, ISSN : 1411-4216, Jurusan Teknik Kimia Politeknik Negeri Malang
- Miller, L.G., 1959, Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar, *Anal chem.*, 31, 426-428
- Mulyani, N.S., Asy'ari, M., dan Prasetyoningsih, H., 2009, Penentuan Konsentrasi Optimum *Oat Spelt Xylan* Pada Produksi Xilanase dari *Aspergillus niger* dalam Media PDB (*Potato Dextrose Broth*), *J. Kim. Sains & Apl.*, XII(1), 6-8
- Murni, S.W., Kholisoh, S.D., Tanti, D.L., dan Petrissia, E.M., 2011, Produksi, Karakterisasi, dan Isolasi Lipase dari *Aspergillus niger*, *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan"*, ISSN 1693-4933, Program Studi Teknik Kimia Fakultas Teknik Industri UPN "Veteran" Yogyakarta
- Pandey, A., Soccol. C.R., Nigem, P., and Soccol, V.T., 2000. Biotechnological Potential of Agro-industrial Residues Sugarcane Bagasse. *Bioresour Technol*, 74, 69-81
- Puspaningsih, N.N.T., Suwito, H., Sumarsih, S., Rohman, A., dan Asmarani, O., 2007, Hidrolisis Beberapa Xilan dengan Enzim Xilanolitik Termofilik Rekombinan, *Berk. Pen. Hayati*, 12, 191-194
- Resita, E., T., 2006, Produksi Selo-Oligosakarida Dari Fraksi Selulosa Tongkol Jagung Oleh Selulase *Trichoderma viride*, *Skripsi*, Departemen Teknologi Industri Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor, Bogor
- Safaria, S., Idiawati, N., dan Zaharah, T.A., 2013, Aktivitas Campuran Enzim Selulase dari *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reesei* dalam Menghidrolisi Substrat sabut Kelapa, *JKK*, 2(1), 46-51
- Simanjuntak, I.O., 2010, Pemanfaatan Potensi enzim Selulase dan Kompleks Xilanase dalam Proses Deinking Kertas Koran Berkas, *Skripsi*, Program Studi S-1 Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga, Surabaya

- Singh, B.K., 2010, Exploring Microbial Diversity for Biotechnology : The way forward. *Trends Biotechnol*, 28, 111-116
- Stryer , L., 2007, *Biochemistry*, W.H. Freeman and Company, New York.
- Susanti, D., 2007, Seleksi dan Produksi Enzim Selulase oleh Kapang Selulolitik Menggunakan Tongkol Jagung dan Blondo, *Tesis*, Pascasarjana Universitas Andalas, Padang.
- Wahyuningtyas, P., Argo, B.D., dan Nugroho, W.A., 2013, Studi Pembuatan Enzim Selulase dari Mikrofungi *Trichoderma reesei* dengan Substrat Jerami Padi sebagai Katalis Hidrolisis Enzimatik pada Produksi Bioetanol, *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis*, 1(1), 21-25.
- Wuru, C.K., 2003, Pemanfaatan Pati dan Tepung Gandum Sebagai Induser dalam Produksi Enzim Glukosa Isomerase dari *Streptomyces griseus*, *Skripsi*, Program Studi S-1 Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga, Surabaya.